

氏名	Matiar Rahman
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	第 4097 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文名	Epidermal growth factor (EGF) によるSwiss 3T3 fibroblastの増殖におけるポリアミンの役割
論文審査委員	主査教授 大谷 周造 副主査教授 福島 昭治 副主査教授 中嶋 弘一

論文内容の要旨

【目的】 細胞増殖因子によって刺激された細胞において、その刺激が核に伝達される過程で、mitogen activated protein kinase (MAPK) の活性化がおこることが明らかにされている。本研究では上皮性増殖因子EGFによりSwiss 3T3 fibroblastsの細胞増殖を誘導したときのMAPKとポリアミンの関係、細胞増殖に必要なATP合成とポリアミンの関係について検討を行った。

【方法】 Ornithine decarboxylase (ODC) とMAPKの阻害剤が、p42/p44^{MAPK}、p38^{MAPK}およびRb蛋白のリン酸化に及ぼす効果はwestern blot法、増殖は [³H] thymidineのDNAへの取り込み、MTT assay、flow cytometryで測定した。ODC活性は [1-¹⁴C] ornithineから遊離した¹⁴CO₂量で、ATP濃度はluciferase法で測定した。

【結果】 p42/p44^{MAPK}の阻害剤PD98059はポリアミン生成の律速酵素ODCの誘導を抑制したが、p38^{MAPK}の阻害剤SB203580は抑制しなかった。両阻害剤は [³H] thymidineのDNAへの取り込みは阻害した。DFMOでポリアミンを枯渇した細胞では、p42/p44^{MAPK}、p38^{MAPK}、Rbの活性化が抑制された。DFMOは細胞のG1/S期移行を阻害し、細胞内ATP量も減少させた。

【結論】 細胞増殖時にはMAPKの活性化がポリアミン生成を盛んにし、細胞内にポリアミンが蓄積すると、それがさらにMAPKを活性化し、お互いに促進的に関連し合い、Rb蛋白のリン酸化を促進し、細胞をG1期からS期へ移行させ、また、ポリアミンがATP合成を促進し、細胞増殖が生じると考えられる。

論文審査の結果の要旨

Polyamines (PA) は生体内に存在する polycation で、主な PA として、putrescine、spermidine、spermine があり、ほとんど全ての生物に存在し、多くの働きを持っていると考えられる。特に、細胞増殖との関連性は古くから指摘されているが、そのメカニズムはあまり明らかにされていない。本研究は、epidermal growth factor (EGF) により Swiss 3T3 fibroblasts を刺激増殖させ、PA 合成の律速酵素である ornithine decarboxylase (ODC) の特異的阻害剤である α -difluoromethylornithine (DFMO) で PA 合成を阻害し細胞内 PA を枯渇させた時、細胞周期 G1 期においておこる mitogen activated protein kinase (MAPK) の活性化、蛋白のリン酸化について調べ、PA の細胞増殖への機能を明らかにしたものである。細胞を DFMO 存在下で培養すると細胞増殖は抑制され、G1 期の細胞が増加し、S 期の細胞が減少した。細胞を DFMO 処理すると、MAPK の活性化、即ちリン酸化は、p42/p44^{MAPK} は僅かに抑制され、p38^{MAPK} は顕著に抑制された。P42/p44^{MAPK} の阻害剤である PD98059 は DNA の合成、及び ODC 活性の誘導を抑制したが、p38^{MAPK} の阻害剤 SB203580 は前者を抑制したが、後者には影響しなかった。細胞内 PA の枯渇

は、PD98059によるp42/p44^{MAPK}の活性化の抑制を増強した。また、DFMOは細胞をG1期からS期へ移行させるために重要なretinoblastoma (Rb) 蛋白のリン酸化を抑制し、その抑制はPAを培養液中に添加することにより減少した。EGFによる細胞内ATPの増加はDFMOにより減少し、spermidine、spermineにより回復傾向が見られた。これらの結果はEGFによる3T3細胞の増殖時にp42/p44^{MAPK}の活性化、ODC活性の誘導がおこり、Rb蛋白のリン酸化が生じる。また、p38^{MAPK}の活性化にPAが関与していることを示している。本研究はPAの細胞増殖促進の機序の一端を明らかにしており、著者は博士の学位（医学）を授与されるに値すると判定された。